

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DAN UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL AKAR TANAMAN AKAR KUCING (*ACALYPHA INDICA* LINN), DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*PHALERIA MACROCARPA* (SHEFF) BOERL) DAN SARI BUAH MERAH (*PANDANUS CONOIDEUS* LAM)

Maksum Radji, Ratna Chandra Sari, Atiek Sumiati
*Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Farmasi FMIPA,
Universitas Indonesia, Depok, 16424*

ABSTRACT

The antimicrobial activity and cytotoxic effect of ethanol extract of Acalypha indica Linn, Phaleria macrocarpa (Sheff) Boerl and Pandanus conoideus Lam, had been carried out. The results of the research showed that those ethanol extracts had antimicrobial activities against Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosae ATCC 27853 and Candida albicans. The determination of cytotoxic effects of those ethanol extracts by brine shrimp lethality test (BSLT) using Artemia salina Leach showed that LC₅₀ of Acalypha indica Linn, Phaleria macrocarpa (Sheff) Boerl and Pandanus conoideus Lam were 1,279 ug/ml, 0.123 ug/ml and 0.054 ug/ml respectively.

Key Words: *Acalypha indica, Phaleria macrocarpa, Pandanus conoideus, antimicrobial, BSLT.*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui aktifitas antimikroba dan efek sitotoksisitas ekstrak etanol dari akar tanaman akar kucing (Acalypha indica Linn), mahkota dewa (Phaleria macrocarpa (Sheff) Boerl) dan sari buah merah (Pandanus conoideus Lam). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari ketiga jenis tanaman tersebut menunjukkan adanya aktifitas antimikroba terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosae ATCC 27853 dan Candida albicans. Pada pengujian efek sitotoksisitas dengan cara brine shrimp lethality test (BSLT) menggunakan Artemia salina Leach menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ ekstrak etanol dari akar tanaman akar kucing, mahkota dewa dan sari buah merah, masing-masing adalah 1,279 ug/ml, 0.123 ug/ml and 0.054 ug/ml.

Key words: *Acalypha indica, Phaleria macrocarpa, Pandanus conoideus, antimicrobial, BSLT.*

PENDAHULUAN

Upaya pencarian bahan baku obat dari bahan alam sampai saat ini masih terus dilakukan. Beberapa penelitian tentang bioaktivitas bahan alam telah banyak dilaporkan untuk memperoleh data ilmiah tentang penggunaan bahan alam yang selama ini digunakan berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun. *Acalypha indica* (akar kucing) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat herbal mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, sterol, glikosida sianogenik *acalypin*, tannin dan *ellagic acid* (1). Di Indonesia dan di Thailand akar kucing digunakan sebagai obat luar untuk mengobati bengkak dan rasa sakit pada kulit, serta banyak digunakan untuk obat nyeri sendi. Di Malaysia air rebusan akar dan daun digunakan sebagai ekspektoran untuk bronkitis dan asma (1, 2).

Phaleria macrocarpa (Sheff) Boerl (mahkota dewa), secara tradisional banyak digunakan sebagai obat luar dengan cara dioleskan atau dilulurkan. Sedangkan untuk penggunaan sebagai obat dalam, kulit buah, daging dan cangkang buahnya dianjurkan untuk direbus terlebih dahulu karena bersifat toksik. Bijinya sendiri sangat toksik sehingga hanya digunakan sebagai obat luar (3). Tanaman ini mengandung alkaloid, terpinoid, saponin senyawa resin, polifenol dan flavonoid (3, 4). *Pandanus conoideus* Lam (buah merah) termasuk tanaman

endemik yang hanya tumbuh di suatu daerah tertentu, banyak mengandung senyawa antioksidan, antara lain betakaroten, tokoferol, virblas-tin, asam oleat, asam linoleat dan asam lemak tak jenuh (5).

Saat ini pemanfaatan ketiga jenis tanaman herbal diatas telah banyak dilakukan untuk mengobati berbagai keluhan termasuk untuk membantu pengobatan penyakit kanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak etanol akar tanaman akar kucing, mahkota dewa dan sari buah merah tersebut sebagai antimikroba dan efek sitotoksiknya dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (6).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan yang digunakan adalah simplisia tanaman berupa buah kering mahkota dewa didapat dari perusahaan obat tradisional di Jakarta, akar kering tanaman akar kucing berasal dari Tawangmangu dan ekstrak kental buah merah diperoleh dari Papua. Mikroba uji terdiri dari *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 dan *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Farmasi UI.

Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96%, etanol 70%, NaCl fisiologis, Natrium karbonat, KOH 10% dan air suling.

Media perbenihan tioglikolat cair, nutrient agar, Mueller Hinton agar dan Sabouraud dektrosa agar.

Artemia salina Leach diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Farmasi UI.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah mesin penggiling simplisia, neraca analitik (Sartorius), penguap putar vakum (Haidolf), aerator (Biolofo), pipet eppendorf, autoklaf (Hirayama), *Laminar air flow* (ESCO), incubator (Mettler-WG), mikroskop (Euromex), vortex (Fischer Scientific), Oven (WT Binder, Lab Line), lemari pendingin dan alat-alat gelas.

Cara Kerja

1. *Penyiapan Bahan*

a. Pembuatan ekstrak etanol daging buah mahkota dewa

Daging buah mahkota kering diserbuk menggunakan alat penggiling sampai halus. Ditimbang 300 g simplisia kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan etanol 96%. Serbuk dimaserasi berulang ulang dengan pelarut baru sebanyak 3 kali sambil dikocok. Maserasi pertama dilakukan selama 4 hari dengan 2000 ml pelarut dan maserasi kedua selama 4 hari dengan 1300 ml pelarut. Maserasi ketiga dilakukan selama 4 hari dengan 1200 ml pelarut. Semua ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator bertekanan rendah pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

b. Pembuatan ekstrak etanol akar kucing

Ditimbang 114 g serbuk kering akar tanaman akar kucing, kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Serbuk dimaserasi berulang ulang dengan pelarut baru sebanyak 3 kali sambil dikocok. Maserasi pertama dilakukan selama 4 hari dengan 1000 ml pelarut dan maserasi kedua selama 4 hari dengan 1000 ml pelarut. Maserasi ketiga dilakukan selama 4 hari dengan 700 ml pelarut. Semua ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator bertekanan rendah pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

c. Penyiapan sari buah merah

Larutan sari buah merah yang berasal dari Papua diencerkan sedemikian rupa sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan untuk dilakukan pengujian.

d. Sterilisasi alat dan bahan uji

Alat dan bahan uji disterilkan menurut cara yang dianjurkan (7).

2. *Penentuan Kadar Hambat Minimal Terhadap Bakteri*

Penentuan kadar hambat minimal (KHM) ekstrak terhadap bakteri uji dilakukan dengan metode penipisan lempeng agar (8, 9). Ke dalam agar Mueller-Hinton yang dicairkan ditambahkan 1 ml larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan hingga membeku. Setelah itu diatas lempeng

agar diinokulasikan inokulum bakteri uji menggunakan sengkelit dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi ekstrak terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

3. *Penentuan Kadar Hambat Minimal Terhadap Jamur*

Pengukuran KHM dilakukan menggunakan metode penipisan lempeng agar (8, 9). Ke dalam agar Sabouraud dekstrosa yang dicairkan ditambahkan 1 ml larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan hingga membeku. Setelah itu diatas lempeng agar diinokulasikan inokulum jamur uji menggunakan sengkelit dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25°C. KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi ekstrak terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan jamur uji.

4. *Uji Kematian Larva Udang (Brine Shrimp Lethality Test (BSLT))*

Penentuan sitotoksitas ekstrak dilakukan menurut cara Mayer, 1982 (6).

a. *Penetasan Artemia salina* Leach

Telur udang dimasukkan ke dalam wadah bening yang telah diisi air suling berkadar garam 15 g/l. Pada media digunakan aerator untuk memperoleh oksigen melalui proses sirkulasi air. Dalam waktu 16 jam sebagian telur sudah menetas menjadi larva. Dalam waktu 48 jam setelah

telur dimasukkan ke dalam media, larva yang berenang bebas digunakan untuk uji toksisitas.

b. *Pembuatan larutan uji*

Ekstrak kental akar kucing dan mahkota dewa ditimbang sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 5 ml etanol hingga didapat konsentrasi 10.000 ppm. Ekstrak diencerkan secara serial hingga didapat konsentrasi 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm dan 0,1 ppm. Masing-masing larutan dimasukkan kedalam vial dan diuapkan hingga kering.

Sari buah merah ditimbang sebanyak 28 mg dan dilarutkan dengan air suling hingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 28.000 ppm. Ekstrak yang didapat diencerkan secara serial hingga diperoleh ekstrak dengan berbagai konsentrasi yaitu 112 ppm, 1,12 ppm, 0,112 ppm, 0,224 ppm. Masing-masing larutan dimasukkan ke dalam vial lalu diuapkan hingga kering.

c. *Pengujian efek sitotoksitas ekstrak terhadap larva udang*

Ekstrak dalam vial yang telah diuapkan dilarutkan dalam air steril berkadar garam 15g/l sebanyak 3 ml. Kemudian 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam vial menggunakan pipet dan ditambahkan air garam sampai 5 ml. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan larva udang yang mati dan masih hidup dalam masing-masing vial dihitung jumlahnya. Larva dinyatakan mati setelah beberapa detik pengamatan tidak mem-

perlihatkan pergerakan sama sekali. Nilai LC_{50} (*Lethal concentration* 50%) ditentukan dengan menggunakan analisis probit dengan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan penetapan kadar hambat minimal ekstrak etanol tanaman akar kucing, buah mahkota dewa dan sari buah merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 dan *Candida albicans* dapat dilihat pada Tabel 1. Sedangkan aktivitas sitotoksitas ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar hambat minimal ekstrak etanol akar tanaman akar kucing terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 100 mg/ml, *Escherichia coli* ATCC 25922

sebesar 200 mg/ml dan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 sebesar 120 mg/ml, sedangkan terhadap *Candida albicans* sebesar 6,25 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar tanaman akar kucing lebih efektif terhadap *Candida albicans* daripada terhadap bakteri.

Kadar hambat minimal ekstrak etanol daging buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 50 mg/ml, *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 100 mg/ml dan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 sebesar 100 mg/ml, sedangkan terhadap *Candida albicans* sebesar 6,25 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah mahkota dewa lebih efektif terhadap *Candida albicans* daripada terhadap bakteri.

Penetapan kadar hambat minimal sari buah merah terhadap bakteri

Tabel 1. Kadar hambat minimum ekstrak etanol akar *Acalypha indica* Linn, buah *Phaleria macrocarpa* (Sheff) Boerl dan sari *Pandanus conoideus* Lam, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 dan jamur *Candida albicans*

Bahan Uji	Konsentrasi hambat minimum terhadap			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosae</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Acalypha indica</i>	100 mg/ml	200 mg/ml	120 mg/ml	6,25 mg/ml
<i>Phaleria macrocarpa</i>	50 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml	6,25 mg/ml
<i>Pandanus conoideus</i>	23,50 mg/ml	23,50 mg/ml	23,50 mg/ml	1,56 mg/ml

Tabel 2. Nilai LC_{50} ekstrak etanol *Acalypha indica* Linn, buah *Phaleria macrocarpa* (Sheff) Boerl dan sari *Pandanus conoideus* Lam, terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Bahan Uji	Nilai LC_{50}
<i>Acalypha indica</i>	1,279 ug/ml
<i>Phaleria macrocarpa</i>	0,123 ug/ml
<i>Pandanus conoideus</i>	0,054 ug/ml

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 adalah sama yaitu sebesar 23,50 mg/ml, sedangkan terhadap *Candida albicans* sebesar 1,56 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa sari buah merah juga sangat efektif terhadap *Candida albicans* daripada terhadap bakteri. Berdasarkan hasil penentuan kadar hambat minimal yang didapat dari ketiga ekstrak tanaman tersebut ternyata bahwa sari buah merah yang paling efektif baik terhadap bakteri maupun terhadap jamur dibandingkan dengan ekstrak akar kucing dan mahkota dewa.

Uji sitotoksitas ekstrak etanol tanaman akar kucing, buah mahkota dewa dan sari buah merah, dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (6), karena metode ini merupakan metode penapisan yang mudah dan ekonomis, mempunyai keterulangan yang cukup baik untuk menentukan efek sitotoksitas tanaman dan dapat digunakan sebagai penapisan senyawa anti kanker yang berasal dari tanaman obat (10). Pada penentuan toksisitas tanaman menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* biasanya digunakan media dengan kadar garam 15 - 300 permil (11). Sedangkan pada percobaan ini digunakan air garam dengan konsentrasi 15 g/l karena selama pengujian terbukti memberikan tingkat hidup yang lebih baik pada larva.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa nilai LC_{50} ekstrak etanol akar tanaman akar kucing, mahkota dewa

dan sari buah merah berturut-turut adalah sebesar 1,279 ug/ml, 0,123 ug/ml dan 0,054 ug/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga simplisia yang diuji mempunyai efek sitotoksitas terhadap sel karena memiliki LC_{50} masing-masing lebih kecil dari 1000 ug/ml (6). Berdasarkan hasil LC_{50} yang didapat maka sari buah merah bersifat paling toksik terhadap larva udang dan memiliki efek sitotoksitas yang paling tinggi, sehingga dapat diteliti lebih lanjut efeknya sitotoksiknya terhadap sel kanker.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol akar tanaman akar kucing dan daging buah mahkota dewa serta sari buah merah mempunyai aktifitas sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853 dan jamur *Candida albicans*. Aktivitas antimikroba sari buah merah lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol akar tanaman akar kucing dan daging buah mahkota dewa.

Ekstrak etanol akar tanaman akar kucing dan daging buah mahkota dewa serta sari buah merah mempunyai aktifitas sitotoksitas terhadap *Artemia salina* Leach. Sari buah merah memiliki efek sitotoksitas yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol akar tanaman akar kucing dan daging buah mahkota dewa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lamabadusuriya SP, UK Jayantha. 1994. *Acalypta indica* induced hemolytic in G6PD deficiency. *Ceylon Med J.* **39**: 46-47.
2. Syamsuhidayat SS, JR Hutapea. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta; hal. 5-6.
3. Harmanto N. 2001. *Mahkota Dewa: Obat Pusaka Para Dewa*. Argomedia Pustaka, Jakarta; hal. 3-13.
4. Winarto WP. 2004. *Mahkota Dewa: Budi Daya dan Pemanfaatannya untuk Obat*. Tim Karyasari, Jakarta; hal. 31-34.
5. Anonim. 2005. *Panduan Praktis Buah Merah, Bukti Empiris dan Ilmiah*. Trubus; hal. 17-32.
6. Mayer BN, NR Ferrigni, LB Putnam, DE Nichols, JL McLaughlin. 1982. Brine shrimp: A Convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica.* **45** : 31-34.
7. Kumari S, RL Ichpujari. 2000. *Guidelines on Standard Operating Procedures for Microbiology*. WHO New Delhi; 23-34.
8. Mueller KW. 1978. *Laboratory Procedures in Mycology*. Hospital Physician Consulting Service Inc; 34-44.
9. Radji M. 2006. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi*. Departemen Farmasi FMIPA-UI. Edisi ke 2; hal.15-43.
10. Lisdawati V. 2002. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Bioassay Antikanker *in vitro* dengan sel leukemia. Struktur Molekul Senyawa Kimia Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Sheff) Boerl). Tesis S2. Departemen Farmasi FMIPA-UI. Depok; hal.7-54.
11. Alam G. 2002. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai Bioassay dalam Isolasi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*; **6**(2) : 432-435.